鹅脂肪甘油三酯脂肪酶和长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 基因表达差异及其对脂肪沉积和血清脂类代谢的调控

王宝维[1,2] 孔 敏[1,2] 葛文华[1] 张名爱[1] 马传兴[1,2] 张 肖[1,2]

（1.青岛农业大学优质水禽研究所，国家水禽产业技术体系营养与饲料功能研究室，青岛 266109；2.青岛农业大学动物科技学院，青岛 266109）

摘 要：本试验旨在研究脂肪甘油三酯脂肪酶（*ATGL*）和长链脂酰辅酶 A 合成酶 1（*ACSL*1）基因在鹅的不同组织器官中的表达差异，并探索 2 个基因表达对机体脂肪沉积和血清脂类代谢的调控。选取 16 周龄五龙鹅 30 只（公母各占 1/2），屠宰后用实时荧光定量 PCR 检测不同组织器官（肝脏、心脏、皮下脂肪、腹部脂肪、胸肌、腿肌、肌胃、腺胃、小肠、肾脏、大脑、肺、脾脏）中 *ATGL*、*ACSL*1 基因表达量。结果表明：1）在鹅的皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏、肾脏、心脏、胸肌和腿肌中均检测出 *ATGL* 和 *ACSL*1 基因的表达；*ATGL* 基因在皮下脂肪和腹部脂肪中表达量最高，其次是肝脏和脾脏，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中只有少量表达；*ACSL1* 基因在皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏中表达量较高，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中有少量表达，而在肌胃、腺胃和肺中几乎不表达。2）*ATGL* 基因表达量与腿肌肌内脂肪率、胸肌肌内脂肪率、腹部脂肪率、胸肌率和腿肌率呈显著或极显著负相关（P<0.05 或 P<0.01)，与皮下脂肪率呈显著正相关（P<0.05)；*ACSL*1 基因表达量与腿肌肌内脂肪率、胸肌肌内脂肪率、胸肌率呈正相关（P＞0.05)，与腿肌率呈显著正相关（P<0.05)，与皮下脂肪率呈显著负相关（P<0.05)。3）*ATGL* 基因表达量与血清甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和葡萄糖含量呈显著或极显著正相关（P<0.05 或 P<0.01)；*ACSL*1 基因表达量与血清总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和葡萄糖含量呈负相关（P＞0.05)，与甘油三酯含量呈显著负相关（P<0.05)。由此可见，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因在鹅的不同组织器官中的表达具有明显差异性，对机体脂肪沉积和血清脂类代谢具有反向调控作用。

关键词：鹅；脂肪甘油三酯脂肪酶基因；长链脂酰辅酶 A 合成酶基因；组织器官；基因表达；基因调控

中图分类号：S835 文献标识码： 文章编号：

脂肪甘油三酯脂肪酶（adipose triglyceride lipase，*ATGL*）是近年来发现的一种新的脂肪酶，它主要参与体内甘油三酯水解第一步的反应[1]，参与脂肪动员过程，能防止脂肪在体内

收稿日期：2016-01-10
基金项目：国家水禽产业技术体系专项基金（CARS-43-11）；山东省良种工程（2014LZ19）
作者简介：王宝维（１９５９—），男，山东荣成人，教授，硕士生导师，博士，究方向为动物营养与保健。E-mail: wangbw@qau.edu.cn

的过度积累，调节机体的生长发育[2]。长链脂肪酸是生物体能量的获取和脂肪合成的重要代谢底物。长链脂酰辅酶 A 合成酶 1（acyl-CoA synthetase 1，*ACSL*1）以长链脂肪酸、ATP 和辅酶 A（CoA）作为底物，可以合成长链酯酰 CoA 酯，通过对脂肪酸酯化反应的控制，达到调控整个机体脂肪酸代谢的目的。Zimmermann 等[1]研究发现，*ATGL* 基因在小鼠脂肪组织中表达量最高，睾丸、心肌和骨骼肌次之。Dai 等[3]发现，在猪的背部脂肪中 *ATGL* 基因表达量最高，其次是肌肉、小肠和心脏。*ATGL* 基因在鸡[4]和鸭[5]的脂肪组织中表达量最高。王芳等[6]对朗德鹅的研究显示，*ATGL* 基因在皮下脂肪和大脑中的表达量明显高于其他组织。*ACSL*1 基因在哺乳动物不同的组织的表达量差异较大，Suzuki 等[7]在大鼠肝脏中首次克隆发现 *ACSL*1，同时在心脏和脂肪组织中检测到其 mRNA 的存在。Mashek 等[8]研究发现，*ACSL*1 基因除了在棕色脂肪组织、性腺、肝脏和心脏中高表达外，还在骨骼肌和大脑中有少量表达。吕佳[9]对四川白鹅的研究显示，*ACSL*1 基因在腹部脂肪和皮下脂肪中有极高的表达。五龙鹅(又称豁眼鹅)是世界体型最小的鹅种之一，产蛋量高，而腹部脂肪含量较少，脂肪沉积速度要低于大型鹅种。目前，关于 *ACSL*1 和 *ATGL* 基因在鹅组织器官中的表达、机体脂肪沉积及与血清脂类代谢关系的研究报道较少。为此，本试验以 5~16 周龄五龙鹅为试验对象，通过荧光定量 PCR 技术对正常生理条件下 *ATGL* 和 *ACSL*1 基因在鹅的肝脏、脾脏、腹部脂肪、皮下脂肪等 13 个组织器官中的表达进行研究，旨在探索 *ATGL* 和 *ACSL*1 基因在鹅不同组织器官中表达差异；此外，通过分析与脂肪沉积、肌肉生长发育及脂肪代谢的相关性，初步探索功能基因与鹅生长发育和脂肪代谢的调控机理。

1　材料与方法

1.1　试验材料

采用相同饲养条件将五龙鹅，从 5 周龄饲养到 16 周龄，并于 16 周龄选择平均体重差异不显著（$P>0.05$）的试验鹅 30 只（公母各占 1/2）进行屠宰取样测定。

1.2　基础饲粮

基础饲粮营养水平参照 NRC（1994）家禽营养需要量设计，其组成及营养水平见表 1。采用高效液相色谱法测得基础饲粮中泛酸含量为 9.45 mg/kg。

表 1　基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)　　%

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels[2]	含量 Content
玉米 Corn	61.97	代谢能 ME/（MJ/kg）	11.29
豆粕 Soybean meal	22.00	粗蛋白质 CP	16.00
鱼粉 Fish meal	1.50	粗纤维 CF	4.98
次粉 Wheat middling	4.00	钙 Ca	0.70

玉米秸秆 Corn straw	8.00	有效磷 AP	0.32
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.78	赖氨酸 Lys	0.82
石粉 Limestone	0.95	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.53
食盐 NaCl	0.30	蛋氨酸 Met	0.26
微量元素 Trace elements[1)]	0.30	苏氨酸 Thr	0.58
多维 Multivitamin[1)]	0.20	泛酸 Pantothenic acid/(mg/kg)	9.45
合计 Total	100.00		

[1)] 多维和微量元素（不含泛酸）为每千克饲粮提供 The multivitamin and trace elements (without pantothenic acid) provided the following per kg of the diet：VA 1 500 mg，VD_3 200 IU，VE 12.5 mg，VK_3 1.5 mg，VB_1 2.2 mg，VB_2 5.0 mg，烟酸 nicotinic acid 65 mg，VB_6 2 mg，生物素 biotin 0.2 mg，叶酸 folic acid 0.5 mg，胆碱 choline 1 000 mg，Fe 85 mg，Cu 5 mg，Mn 80 mg，Zn 80 mg，I 0.42 mg，Se 0.3 mg，Co 2.5 mg。

[2)] 泛酸为实测值，其他营养水平为计算值。Pantothenic acid was a measured value, while other nutrient levels were calculated values.

1.3 饲养管理

试验前对鹅舍进行全面消毒；全期采取舍饲，网上分栏饲养。试验鹅自由饮水和采食，少添喂勤，注意观察鹅群的生长状况。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 屠宰指标测定

16 周龄末，翅静脉采血后对试验鹅进行屠宰，宰前禁食 12 h，按照《家禽生产性能名词术语和度量统计方法》（NY/T 823—2 004）测定腹部脂肪重、颈部皮下脂肪重、胸肌重、腿肌重和肝脏重，迅速将采集腹部脂肪、皮下脂肪、肾脏、肝脏、心脏、小肠、胸肌、腿肌、胃和肺等组织样品，存放于液氮速冻保存，用于提取总 RNA 试验。并于相同部位采集肝脏、腿肌、胸肌，保存于-20 ℃冰箱中用于测定肝脏、腿肌、胸肌含脂率[10]。

1.4.2 腿肌、胸肌、肝脏脂肪率测定

将样品从-20 ℃冰箱中取出解冻，剪碎称重，置于 105 ℃烘箱中烘干，用电子天平称量其绝对干重，将脱脂滤纸在 105 ℃烘箱中烘干后称重，然后将样品磨碎后取 2 g 左右包在滤纸中，再在烘箱中烘至绝干，在电子天平上称出其准确重量，然后，将滤纸包好，放入索式提取器中用乙醚抽提 12 h，水浴温度为 70~80 ℃，脱脂后的样包烘干后称出其脱脂后重量。

样品（绝干）脂肪率（%）=100×（脱脂前样包重－脱脂后样包重）/（脱脂前样包重－绝干滤纸重)[10]。

1.4.3 血清生化指标

16 周龄末，翅下静脉采血 5 mL，3 000 r/ min 离心 10 min，取上清液。血清中甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量均用试剂盒测定，所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4.4 基因表达定量测定

将肝脏样品从液氮中取出，迅速剪取 50~100 mg，加入 1 mL RNAiso™ Plus 试剂，按照说明书方法提取总 RNA。用分光光度计（UV-1100）检查总 RNA 浓度及纯度；用琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 质量，总将 RNA 溶液稀释为 1.0 μg/μL。

按照试剂盒说明书，用 PrimeScript™ RT reagent Kit (Takara,DRR037D)对提取的 RNA 立即进行反转录试验。反转录反应体系为 20 μL：10 μL 2×RT Buffer，1 μL 随机引物（100 pmol/μL)，1 μL RT-mix，5 μL 模板（RNA），3 μL 焦碳酸二乙酯（DEPC）水。反应条件：轻轻搅拌；25 ℃ 10 min，42 ℃ 60 min，85 ℃ 5 min，反应结束后，将反转产物 cDNA 置于 -20 ℃保存。

根据 GenBank 发表的鹅的 *ATGL* mRNA 序列（GenBank 登录号 HQ 914789）和 *ACSL*1 mRNA 序列（GenBank 登录号 GQ 891991）与鹅的全部基因组序列相对比，应用 Primer5.0 软件进行引物设计，*ATGL* 基因上游引物 5′-TCGCAACCTCTACCGCCTCT-3′，下游引物 5′-TCCGCACAAGCCTCCATAAGA-3′；*ACSL*1 基因上游引物 5′-GGAGGAAGAGTAAGGCTGATGGT-3′，下游引物 5′-CCAGGAACCGACAGTGAGCAT-3′；β 肌动蛋白（β-actin）为内参基因，上游引物 5′-GTTCTTGACTCTGGCGATGG-3′，下游引物 5′-TAAGGTTTCAGGACAGCGGA-3′。预测扩增长度为 130 bp 左右，基因设计的引物由上海生工生物公司合成。

用实时定量 PCR 仪（Bio-Rad CFX)对反转录产物 cDNA 进行定量 PCR，PCR 反应体系为 50 μL：25 μL 2×PCR Buffer，1.2 μL Primer(25 pmol/μL)，0.3 μL SYBR Green Ⅰ，1 μL 模板（cDNA)，22.5 μL DEPC 水，反应条件：94 ℃ 4min；94 ℃ 20s；60 ℃ 30 s；72 ℃ 30 s；循环 35 次，观察扩增曲线。

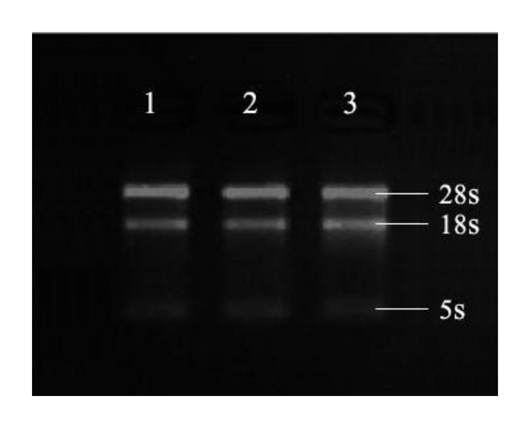
1.5 数据处理与统计分析

采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法处理试验原始数据，然后再将所得数据采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析（one-way ANOVA)，显著性检验用 LSD 法，试验数据以“平均值±标准差”表示，同时对基因表达量与其他指标的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 *ATGL*、*ACSL*1 基因的 PCR-PCR 扩增

以抽提的总 RNA 为模板，经 RT-PCR 获得 cDNA，对 *ATGL*、*ACSL*1 和 β-actin 基因进行扩增（图 1）。将提取的总 RNA 进行 1.0%琼脂糖凝胶电泳可见在 28S、18S 2 条清晰的 rRNA 条带，且 28S 条带亮度约为 18S 亮度的 2 倍，说明所提取的总 RNA 完整。



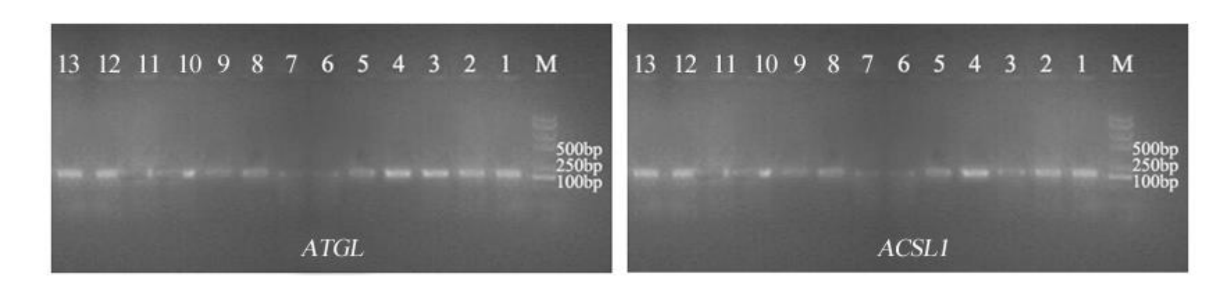
1：脂肪甘油三酯脂肪酶 *ATGL*；2：长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 *ACSL*1；3：β 肌动蛋白 β-actin。

图 1 总 RNA 电泳图

Fig 1 Electrophoretogram of total RNA

2.2 *ATGL*、*ACSL*1 基因在不同组织器官表达的差异分析

以 β-actin 为内参基因，运用 RT-PCR 的方法检测鹅的肝脏、心脏、皮下脂肪、腹部脂肪、胸肌、腿肌、肌胃、腺胃、小肠、肾脏、大脑、肺、脾脏中的 *ATGL*、*ACSL*1 基因表达量。试验结果表明，*ATGL* 基因在皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏中表达量较高，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中有少量表达，而在肌胃、腺胃和肺中几乎不表达；*ACSL*1 基因在皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏中表达量较高，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中有少量表达，而在肌胃、腺胃和肺中几乎不表达（图 2）。



M. DL2000 DNA 相对分子质量标准；1：肝脏；2：心脏；3：皮下脂肪；4：腹部脂肪；5：胸肌；6：腿肌；7：肌胃；8：腺胃；9：小肠；10：肾脏；11：大脑；12：肺；13：脾脏。

M. DL2000 DNA maker; 1: liver; 2: heart; 3: subcutaneous fat; 4: abdominal fat; 5: breast muscle; 6: leg muscle; 7: muscular stomach; 8: glandular stomach; 9: small intestine; 10: kidney; 11: brain; 12: lung; 13: spleen.

图 2 *ATGL* 和 *ACSL*1 基因琼脂糖凝胶电泳结果

Fig 2 Agarose gel electrophoresis results of *ATGL* and *ACSL*1 genes

由图 3 所示，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因扩增曲线走势正常，熔解曲线都只显示单峰且峰值单一，没有其他杂峰，说明引物特异性比较好，没有引物二聚体等非特异性扩增产物产生，检测体系比较稳定，可靠性高。

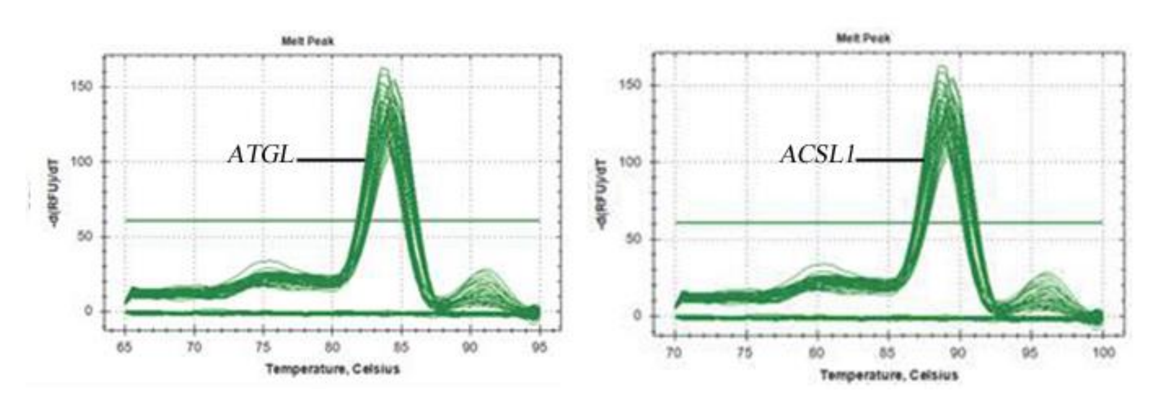


图 3　*ATGL* 和 *ACSL*1 基因的熔解曲线

Fig.3　Melting curve of *ATGL* and *ACSL*1 genes

由图 4 所示，*ATGL* 及 *ACSL*1 基因的扩增曲线的拐点均很清楚，基线平直，S 型曲线较好。

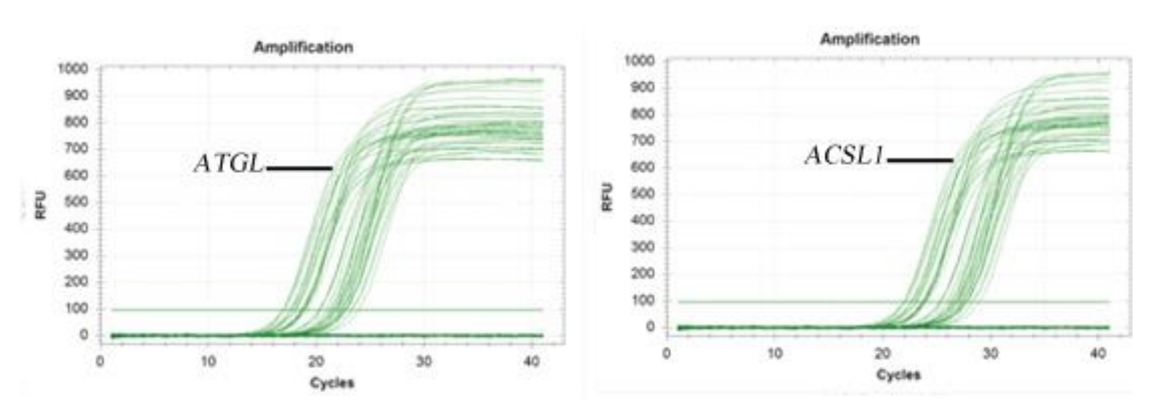


图 4　*ATGL* 和 *ACSL*1 基因的扩增曲线

Fig.4　Amplification curves of *ATGL* and *ACSL*1 genes

2.3　*ATGL*、*ACSL*1 基因在不同组织器官中的表达量

由表 2 可知，*ATGL*、*ACSL*1 基因在不同组织器官中几乎都有表达，尤其是在腹部脂肪和皮下脂肪中表达最高，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中有少量表达，而在腺胃、肌胃和肺中几乎不表达。其中，*ATGL* 基因在皮下脂肪的表达量分别是肌胃、腺胃和肺中的 24.57、36.86 和 73.71 倍（P<0.01）；在腹部脂肪中的表达量分别是肌胃、腺胃和肺中的 17.57、26.36 和 52.71 倍（P<0.01）。*ACSL*1 基因在皮下脂肪的表达量分别是肌胃、腺胃和肺中的 6.65、6.00 和 11.71 倍（P<0.01）；在腹部脂肪中对表达量分别是肌胃、腺胃和肺中的 18.16、16.39 和 32.00 倍（P<0.01）。

以上结果表明，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因在上述组织器官中的表达存在差异性，且在腹部脂肪和皮下脂肪中的表达量最高，说明 2 种基因对脂肪沉积均有调控作用。

表 2　*ATGL*、*ACSL*1 基因在不同组织器官中的表达量

Table 2　The *ATGL* and *ACSL*1 genes expression in different tissues and organs

项目 Items	脂肪甘油三酯脂肪酶基因 *ATGL* gene	长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 基因 *ACSL*1 gene
肝脏 Liver	1.08 ± 0.10^{c}	1.21 ± 0.07^{d}
心脏 Heart	0.57 ± 0.09^{e}	1.12 ± 0.02^{d}
皮下脂肪 Subcutaneous fat	5.16 ± 0.23^{a}	2.46 ± 0.25^{b}
腹部脂肪 Abdominal fat	3.69 ± 0.11^{b}	6.72 ± 0.38^{a}
胸肌 Breast muscle	0.41 ± 0.02^{ef}	0.69 ± 0.15^{f}
腿肌 Leg muscle	0.35 ± 0.04^{fg}	0.78 ± 0.11^{ef}
肌胃 Muscular stomach	0.21 ± 0.04^{g}	0.37 ± 0.05^{g}
腺胃 Glandular stomach	0.14 ± 0.05^{gh}	0.41 ± 0.05^{g}
小肠 Small intestine	0.03 ± 0.00^{gh}	1.01 ± 0.07^{de}
肾脏 Kidney	0.93 ± 0.07^{cd}	1.63 ± 0.11^{c}
大脑 Brain	0.73 ± 0.14^{d}	0.16 ± 0.03^{g}
肺 Lung	0.07 ± 0.01^{gh}	0.21 ± 0.02^{g}
脾脏 Spleen	0.81 ± 0.08^{d}	1.09 ± 0.16^{d}
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001

同列数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著(P>0.05)，相邻小写字母表示差异显著(P<0.05)，相间小写字母表示差异极显著(P<0.01)。

In the same column, values with the same small or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with adjacent small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), and with alternate small letter superscripts mean significant difference (P<0.01).

2.4　*ATGL*、*ACSL*1 基因表达量与脂肪沉积和肌肉生长发育的关系

由表 3 和表 4 可知，*ATGL* 基因表达量与腿肌肌内脂肪率和胸肌肌内脂肪率呈极显著负相关（P<0.01），与腹部脂肪率、胸肌率和腿肌率呈显著负相关（P<0.05），与皮下脂肪率呈显著正相关（P<0.05）；*ACSL*1 基因表达量与腿肌肌内脂肪率和胸肌肌内脂肪率呈正相关

（*P*>0.05），与腿肌率（*P*<0.05)和胸肌率（*P*>0.05)呈正相关，与皮下脂肪率呈显著负相关（*P*<0.05)。腹部脂肪率仅占1.55%，并且与*ATGL*、*ACSL*1基因表达均呈负相关（*P*>0.05)，充分表明了五龙鹅低脂的种质特性。

以上结果表明，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因对鹅机体脂肪沉积和肌肉生长发育呈反向调控，*ATGL* 基因对组织脂肪沉积作用影响要比 *ACSL*1 基因更为显著。

表 3 五龙鹅脂肪沉积指标

Table 3 Fat deposition indices of *Wulong* geese %

项目 Item	腿肌肌内脂肪率 IMF percentage in leg muscle	胸肌肌内脂肪率 IMF percentage in breast muscle	腹部脂肪率 Percentage of abdominal fat	皮下脂肪率 Percentage of subcutaneous fat	腿肌率 Percentage of leg muscle	胸肌率 Percentage of breast muscle
数值 Value	13.37±1.45	9.63±1.77	1.55±0.36	6.07±1.49	13.53±1.27	12.09±1.56

表 4 *ATGL*、*ACSL*1 基因表达量与脂肪沉积指标的相关分析

Table 4 Correlation analysis among *ATGL* and *ACSL*1 gene expressions and fat deposition indices

项目 Items	腿肌肌内脂肪率 IMF percentage in leg muscle	胸肌肌内脂肪率 IMF percentage in breast muscle	腹部脂肪率 Percentage of abdominal fat	皮下脂肪率 Percentage of subcutaneous fat	腿肌率 Percentage of leg muscle	胸肌率 Percentage of breast muscle
脂肪甘油三酯脂肪酶基因表达量 *ATGL* gene expression	-0.928**	-0.907**	-0.756*	0.773*	-0.853*	-0.864*
长链脂酰辅酶A合成酶1基因表达量 *ACSL1* gene expression	0.718	0.706	-0.601	-0.839*	0.814*	0.723

*、**分别表示在 0.05、0.01 水平上的差异显著。表 6 同。

* and ** mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively. The same as Table 6

2.5　*ATGL*、*ACSL*1 基因表达量与血清脂类代谢指标的相关性

由表 5 和表 6 可知，*ATGL* 基因表达量与血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和葡萄糖含量呈正相关；其中，*ATGL* 表达量与甘油三酯含量呈极显著正相关（P<0.01）。*ACSL*1 基因表达量与血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和葡萄糖含量呈负相关；其中，*ACSL*1 基因表达量与甘油三酯含量呈显著负相关（P<0.05）。

以上结果表明，*ATGL*、*ACSL*1 基因表达量与脂类代谢密切相关，尤其是与甘油三酯代谢关系更为紧密，并呈反向调控。

表 5　五龙鹅血清脂类代谢指标

Table 5　Serum lipid metabolism indices of *Wulong* geese　　mmol/L

项目 Item	总胆固醇 TCH	甘油三酯 TG	高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C	低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C	葡萄糖 GLU
数值 Value	2.62±0.98	0.67±0.31	1.79±0.32	2.83±0.27	9.45±0.64

表 6　*ATGL*、*ACSL*1 基因表达量与血清脂类代谢指标的相关分析

Table 6　Correlation analysis among *ATGL* and *ACSL*1 gene expressions and serum lipid metabolism indices

项目 Items	总胆固醇 TCH	甘油三酯 TG	高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C	低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C	葡萄糖 GLU
脂肪甘油三酯脂肪酶基因表达量 *ATGL* gene expression	0.676	0.923**	0.782*	0.798*	0.785*
长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 基因表达量 *ACSL*1 gene expression	-0.583	-0.775*	-0.618	-0.558	-0.634

3　讨　论

3.1　*ATGL* 和 *ACSL*1 基因的组织表达特异性

ATGL 蛋白质具有脂肪酶活性的 GXSXG 模序，在该蛋白质的 N 端含有一个特殊的 Patain 结构域，且在不同物种间具有高度的保守性，其在小鼠脂肪组织中表达量最高，在睾丸、心肌和骨骼肌中次之，在肝脏、脾脏、肾脏、脑和肺组织中也有低水平的表达[1]。Nie 等[11-12]

研究表明，*ATGL* 基因在禽类的脂肪组织中有较高的表达。王芳[6]研究发现，朗德鹅 *ATGL* 基因在皮下脂肪的表达量较高，显著高于除脑组织外的其他组织，在胃和肺中的表达量最低。Mashek 等[8]研究发现，*ACSL*1 基因除了在棕色脂肪组织、性腺、肝脏和心脏中高表达外，还在骨骼肌和大脑中有少量表达。吕佳[9]研究结果表明，四川白鹅 *ACSL*1 基因在腹部脂肪和皮下脂肪中表达量极高，在肝脏、心脏中次之，在大脑中表达量极低。本试验发现，在鹅的皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏、肾脏、心脏、胸肌和腿肌中均检测出 *ATGL* 基因的表达，可看出在正常生理条件下 *ATGL* 基因广泛在鹅的各组织器官中表达，在脂肪组织中表达量较高，与 Nie 等[11]的研究结果一致。*ATGL* 基因在皮下脂肪和腹部脂肪中表达量最高，与哺乳动物和鸡、鸭[12]相似，其次是肝脏和脾脏，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中只有少量表达，在胃、肺和小肠中几乎不表达，表明 *ATGL* 基因的表达在鹅的各组织器官中存在差异性，可以进一步推测出 *ATGL* 基因在脂肪组织的表达有重要的生物学意义。但在本试验中脾脏中的 *ATGL* 基因的表达量处于中间水平，为在腹部脂肪中表达量的 1/5，而在王芳[6]的研究中脾脏中的 *ATGL* 基因的表达量是腹部脂肪中表达量的 2 倍，这个结果是因个体差异或是品种差异还有待进一步研究。

本试验结果还表明，在鹅的皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏、肾脏、心脏、胸肌和腿肌中均检测出 *ACSL*1 基因的表达，与 Mashek 等[8]的研究具有一致性。在皮下脂肪、腹部脂肪、肝脏、脾脏中表达量较高，在肾脏、心脏、胸肌和腿肌中有少量表达，而在肌胃、腺胃和肺中几乎不表达，其组织表达规律与吕佳[9]的研究类似，并且在其功能区域序列变异较小，表明该基因在功能上具有一定的保守性，显示 *ACSL*1 基因与脂肪酸的合成代谢有密切的关系。*ACSL*1 基因在人的 HepG2 细胞[13]及大鼠的肝脏[14]、心脏[15]中发生过表达之后，都会促进脂肪酸向甘油三酯的转化。通过免疫共沉淀的方法发现，脂肪酸转运蛋白 1（*FATP*1）基因与 *ACSL*1 基因之间存在相互作用，促进细胞对脂肪酸的摄取[16]。通过本试验中 *ACSL*1 基因的表达规律可以看出，*ACSL*1 基因具有促进甘油三酯的沉积与脂肪酸转运的功能。

3.2　*ATGL* 和 *ACSL*1 基因表达量与机体脂肪沉积指标的相关性

屠宰性能指标能从表观上反映营养物质在不同组织及同一组织的不同部位中沉积量差异。Zimmermann 等[1]研究发现，*ATGL* 基因的表达与机体脂肪组织的发育密切相关。Muoio 等[17]研究发现，长链脂酰辅酶 A 是生物体进行脂类和蛋白质合成所必需的底物，当 *ACSL*1 被抑制后，会导致小鼠体内甘油三酯等含量出现不同程度的降低。Kim 等[4]研究表明，肝脏中的过氧化物酶体增殖物激活受体（PPAR）作为激动剂能诱导 *ACSL*1 基因的表达，增加相关酶的活性。本试验研究发现，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因的表达量与腹部脂肪率均呈负相关，与

Zimmermann 等[1]的研究基本一致；由此证明了 *ACSL*1 与 *ATGL* 基因在长链脂肪酸的合成和机体发育过程中发挥积极作用。

Cui 等[18]研究发现，肝脏是合成脂肪的重要器官，在生长发育阶段肝脏中脂肪代谢相关酶活性会明显提高。*ACSL*1 基因启动子区域含有 PPAR 的作用元件[19]，介导信号转导途径参与蛋白质的合成调控机体的生长；*ATGL* 基因则可以通过调控脂肪代谢通路中的白细胞介素、转录因子结合蛋白和解偶联蛋白 1 调节胰岛素的分泌和敏感性，促进脂肪分解[20]，减少脂肪细胞的数量，使肌肉中脂肪增加的速度低于肌肉生长的速度。本试验结果表明，*ATGL* 基因的表达量与胸肌肌内脂肪率、腿肌肌内脂肪率呈极显著负相关，*ACSL*1 基因与胸肌肌内脂肪率、腿肌肌内脂肪率呈正相关，表明这 2 个基因对肌内脂肪率呈反向调控，*ATGL* 基因对胸肌和腿肌的脂肪率调控作用更加显著，肌内脂肪的主要成分为磷脂和甘油三酯，ATGL 是甘油三酯水解的限速酶，有助于防止胸肌和腿肌中脂肪的过度沉积，减少肥胖及相关病症的发生。本试验选择的试验动物五龙鹅，腹部脂肪含量较低，脂肪沉积速度较慢，原因可能是由于 *ATGL*、*ACSL*1 基因通过影响肝脏中脂肪代谢相关酶活性调控肌肉中脂肪细胞发育实现的，其调控机理还有待于继续研究。

尹靖东等[21]认为，鹅腿肌中的肌内脂肪含量比胸肌高，其原因与不同的部位脂肪细胞的生长发育、ACSL1 的活性及微小血管组织的生长发育有关。本试验发现，五龙鹅腿肌肌内脂肪率同样高于胸肌肌内脂肪率，组织表达中也证实 *ACSL*1 基因在 2 个器官中均有表达，表明 *ACSL*1 基因对肌内脂肪代谢起重要调控作用。

3.3 *ATGL* 和 *ACSL*1 基因表达量与血清脂类代谢指标的相关性

家禽脂肪的发育和沉积主要受血清中甘油三酯的含量影响[22]。闻治国等[23]在对北京鸭的研究中发现，当高密度脂蛋白和极低密度脂蛋白的分泌速度低于甘油三酯的合成速度时，脂肪在肝脏大量沉积，血液中甘油三酯含量显著升高。Zechner 等[25]研究证实，ATGL 催化机体整个脂解过程中的第一步，也是脂解限速的关键一步。在哺乳动物中 *ACSL*1 基因主要表达于脂肪组织和肝脏，定位于细胞内膜，与甘油三酯的合成和脂肪酸的摄取有关[26]。ATGL 参与水解甘油三酯的第 1 步反应，生成甘油二酯和游离脂肪酸[27]；ACSL1 能够以长链脂肪酸(C_{12}～C_{22})、ATP 和 CoA 作为底物，生成相应长链脂酰 CoA 酯[28]，脂酰辅酶 A 酯又是体内合成甘油三酯的重要底物。本试验结果显示，*ATGL* 基因表达量与甘油三酯含量呈极显著正相关，*ACSL*1 基因表达量与甘油三酯含量呈显著负相关；这表明在五龙鹅脂肪代谢过程中，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因对促进脂质合成和脂肪酸的运转都发挥了积极的作用，并且这 2 个基因对脂类代谢呈反向调控作用。

葡萄糖是机体积累和转化能量的主要方式，李金锋[24]在肉种鸡后代脂肪代谢研究结果表明，葡萄糖是动物机体的主要功能物质，是机体内脂肪合成的前体，血清葡萄糖含量受到机体脂肪代谢程度的影响。肝脏为调节糖代谢的枢纽[29]，*ATGL* 和 *ACSL*1 基因参与肝脏内糖和脂肪代谢，调控甘油三酯及相关蛋白质合成与分解[30]，释放甘油和游离脂肪酸，参与三羧酸循环过程而影响葡萄糖含量，也可以通过对胰岛素分泌的抑制，有效的减少脂肪的生成和积蓄，促进能量消耗，维护机体的正常生理功能。本试验结果表明，*ATGL* 基因表达量与葡萄糖的含量呈正相关，*ACSL*1 基因与之呈负相关，这表明这 2 个基因对葡萄糖代谢也呈反向调控。而王海威等[31]在肉鸡上的研究发现，葡萄糖的含量与体内脂类代谢基因无显著相关性，其原因是与物种有关还是由于试验误差造成的还有待于继续研究。

4 结 论

① *ATGL* 和 *ACSL*1 基因在五龙鹅不同组织器官中表达具有明显差异性，尤其是在腹部脂肪和皮下脂肪中表达最高，表明这 2 个基因的表达均对脂肪沉积有调控作用。

② *ATGL* 基因表达量与腿肌肌内脂肪率、胸肌肌内脂肪率、胸肌率和腿肌率呈负相关，与皮下脂肪率呈显著正相关；*ACSL*1 基因表达量与腿肌肌内脂肪率、胸肌肌内脂肪率、胸肌率和腿肌率呈正相关，与皮下脂肪率呈显著负相关。

③ *ATGL* 基因表达量与血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和葡萄糖含量呈正相关；*ACSL*1 基因表达量与血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和葡萄糖含量呈负相关；尤其是与甘油三酯代谢关系更为紧密。

④ *ATGL*、*ACSL*1 基因表达量对鹅脂肪沉积和血清脂类代谢具有反向调控作用。

参考文献：

[1] ZIMMERMANN R,STRAUSS J G,HAEMMERLE G,et al.Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase[J].Science,2004,306(5700):1383–1386.

[2] HAEMMERLE G,LASS A,ZIMMERMANN R,et al.Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase[J].Science,2006,312(5774):734–737.

[3] DAI L H,XIONG Y Z,JIANG S W,et al.Molecular characterization and association analysis of porcine adipose triglyceride lipase (*PNPLA*2) gene[J].Molecular Biology Reports,2011,38(2):921–927.

[4] 史铭欣,荣恩光,周纬男,等.高、低脂鸡脂肪组织 *ATGL* 基因的表达及其激素调控的差异分析[J].畜牧兽医学报,2013,44(12):1874–1881.

[5] 寇洁.鸭不同部位皮下脂肪组织发育差异研究[D].博士学位论文.雅安:四川农业大学,2013.

[6] 王芳.鹅脂肪性状相关基因的克隆表达及 LEPR 在脂肪细胞中的功能研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2011:76–91.

[7] SUZUKI H,KAWARABAYASI Y,KONDO J,et al.Structure and regulation of rat long-chain acyl-CoA synthetase[J].The Journal of Biological Chemistry,1990,265(15):8681–8685.

[8] MASHEK D G,LI L O,COLEMAN R A.Rat long-chain acyl-CoA synthetase mRNA,protein,and activity vary in tissue distribution and in response to diet[J].The Journal of Lipid Research,2006,47(9):2004–2010.

[9] 吕佳.鹅 ACSL 家族 CDS 区的克隆、组织表达及棕榈酸对其在肝细胞中 mRNA 表达的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2009:30–32.

[10] 顾志良,赵万里,周勤宣.肉鸡腹脂与皮下脂肪、肌脂率、肝脂率的关系[J].中国家禽,1994(3):27–29.

[11] NIE Q H,FANG M X,XIE L,et al.Associations of *ATGL* gene polymorphisms with chicken growth and fat traits[J].Journal of Applied Genetics,2010,51(12):185–196.

[12] NIE Q H,HU Y S,XIE L,et al.Identification and characterization of adipose triglyceride lipase (*ATGL*) gene in birds[J].Molecular Biology Reports,2010,37(7):3487–3493.

[13] LEE K,SHIN J,LATSHAW J D,et al.Cloning of adipose triglyceride lipase complementary deoxyribonucleic acid in poultry and expression of adipose triglyceride lipase during development of adipose in chickens[J].Poultry Science,2009,88(3):620–630

[14] PARKES H A,PRESTON E,WILKS D,et al.Overexpression of acyl-CoA synthetase-1 increases lipid deposition in hepatic (HepG2) cells and rodent liver *in vivo*[J].AJP: Endocrinology and Metabolism,2006,291(4):E737–E744.

[15] CHIU H C,KOVACS A,FORD D A,et al.A novel mouse model of lipotoxic cardiomyopathy[J].Journal of Clinical Investigation,2001,107(7):813–822.

[16] RICHARDS M R,HARP J D,ORY D S,et al.Fatty acid transport protein 1 and long-chain acyl coenzyme A synthetase 1 interact in adipocytes[J].Journal of Lipid Research,2006,47(3):665–672.

[17] MUOIO D M,LEWIN T M,WIEDMER P,et al.Acyl-CoAs are functionally channeled in liver:potential role of Acyl-CoA synthetase[J].AJP:Endocrinology and Metabolism,2000,27

9(6):E1366–E1373.

[18] CUI H X,ZHENG M Q,LIU R R,et al.Liver dominant expression of fatty acid synthase (*FAS*) gene in two chicken breeds during intramuscular-fat development[J].Molecular Biology Reporter,2012,39(4):3479–3484.

[19] SCHOONJANS K,WATANABE M,SUZUKI H,et al.Induction of the acyl-coenzyme A synthetase gene by fibrates and fatty acids is mediated by a peroxisome proliferator response element in the C promoter[J].The Journal of Biological,1995,270(33):19269–19276.

[20] RAMSAY T G.Porcine leptin inhibits lipogenesis in porcine adipocytes[J].Journal of Animal Science,2003,81(12):3008–3017.

[21] 尹靖东,齐广海,霍启光.家禽脂类代谢调控机理的研究进展[J].动物营养学报,2000,12(2):1–7.

[22] 付睿琦,赵桂苹,刘冉冉,等.北京油鸡体脂分布及沉积规律研究[J].动物营养学报,2013,25(7):1465–1472.

[23] 闻治国,侯水生,谢明,等.不同填饲量对北京鸭生长性能、血清生化指标和肝脏组织学的影响[J].动物营养学报,2012,24(1):69–77.

[24] 李金锋.饲粮能量水平对肉种鸡产蛋后期子代脂肪代谢的影响[D].硕士学位论文.哈尔滨:东北农业大学,2014:22–23.

[25] ZECHNER R,KIENESBERGER P C,HAEMMERLE G,et al.Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores[J].The Journal of Lipid Research,2009,50(1):3–21.

[26] LEWIN T M,KIM J H,GRANGER D A,et al.Acyl-CoA synthetase isoforms 1,4,and 5 are present in different subcellular membranes in rat liver and can be inhibited independently[J].Journal of Biological Chemistry,2001,276(27):24674–24679.

[27] SCHOENBORN V,HEID I M,VOLLMERT C,et al.The ATGL gene is associated with free fatty acids,triglycerides,and type 2 diabetes[J].Diabetes,2006,55(5):1270–1275.

[28] COLEMAN R A,LEWIN T M,MUOIO D M.Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis[J].Annual Review of Nutrition,2000,20(1):77–103.

[29] 秦霞,杨连玉.瘦素对脂肪沉积的调控作用[J].畜牧与饲料科学,2010,31(1):38–41.

[30] SINGH I,LAZO O,DHAUNSI G S,et al.Transport of fatty acids into human and rat peroxisomes.Differential transport of palmitic and lignoceric acids and its implication to X-a

drenoleukodystrophy[J].The Journal of Biological Chemistry,1992,267(19):13306–13313.

[31] 王海威,王启贵,王守志,等.肉鸡高、低脂系体脂性状和血清生化指标的比较分析[J].东北农业大学学报,2009,40(11):76–80.

Differential Expression of Adipose Triglyceride Lipase and Long-Chain Acyl-CoA-Synthetase 1 Genes and Their Regulation of Fat Deposition and Serum Lipid Metabolism of Geese

WANG Baowei[1,2]　KONG Min[1,2]　GE Wenhua[1]　ZHANG Ming' ai[1]　MA Chuanxing[1,2]　ZHANG Xiao[1,2]

(1. *Nutrition and Feed Laboratory of China Agriculture Research System, Institute of High Quality Waterfowl, Qingdao Agricultural University, Qingdao* 266109, *China*; 2. *College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao* 266109, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to study the difference of adipose triglyceride lipase (ATGL) gene and long-chain acyl-CoA-synthetase 1 (ACSL1) genes expression in different tissues and organs of geese, and to explore the expression of two genes on body fat deposition and serum lipid metabolism regulation. Selected thirty 16-week-old *Wulong* Geese (half male and half female), and the *ATGL* and *ACSL*1 gene expressions in different tissues and organs (liver, heart, subcutaneous fat, abdominal fat, breast muscle, leg muscle, muscular stomach, glandular stomach, small intestine, kidney, brain, lung, spleen) were detected by real-time quantitative PCR after slaughter. The results showed as follows: 1) The expressions of *ATGL* and *ACSL*1 genes were detected in subcutaneous fat, abdominal fat, liver, spleen, kidney, heart, breast muscle and leg muscle of geese; *ATGL* gene expression in subcutaneous fat and abdominal fat relative was the highest, followed by that in the liver and spleen, in kidney, heart, breast muscle and leg muscle only a few of expression. *ACSL*1 gene expression in subcutaneous fat, abdominal fat, liver and spleen was the highest, and slightly expressed in kidney, heart, breast muscle and leg muscle, and almost no expression in muscular stomach, glandular stomach and lung. 2) *ATGL* gene expression showed a significant negative correlation with intramuscular fat（IMF）percentage in leg muscle, IMF percentage in breast muscle, percentage of abdominal fat, percentage of leg muscle and percentage of breast muscle （P<0.05 or P<0.01), and was significant positively correlated with percentage of subcutaneous fat (P<0.05); *ACSL*1 gene expression was positively related with IMF percentage in leg muscle, IMF percentage in breast muscle and percentage of breast muscle （P＞0.05), and was significantly positively correlated with percentage of leg muscle (P<0.05), while it

showed a significant negative correlation with percentage of subcutaneous fat ($P<0.05$). 3) The *ATGL* gene expression was significantly positively correlated with the contents of total cholesterol （TCH）, high density lipoprotein cholesterol （HDL-C）, low density lipoprotein cholesterol （LDL-C） and glucose （GLU） in serum （$P<0.05$ or $P<0.01$); the *ACSL*1 gene expression was negatively correlated with the content of TCH, HDL-C, LDL-C and GLU in serum（$P>0.05$), and it were significantly negatively correlated with the triglyceride content. In conclusion, the expressions of *ATGL* and *ACSL*1 genes in different tissues and organs of geese have obvious differences, which have a negative regulation on fat deposition and serum lipid metabolism.

Key words: geese; *ATGL* gene; *ACSL*1 gene; tissues and organs; gene expression; gene regulation

---

Author, WANG Baowei, professor, E-mail: wangbw@qau.edu.cn (责任编辑　武海龙)